

19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift  
10 DE 44 00 674 A 1

21 Aktenzeichen: P 44 00 674.8  
22 Anmeldetag: 12. 1. 94  
43 Offenlegungstag: 27. 7. 95

51 Int. Cl.<sup>6</sup>:  
G 01 N 21/31  
G 01 N 33/49  
G 12 B 17/00  
G 01 B 17/00  
A 61 B 5/14  
// G 01 B 103:00,  
105:30

DE 44 00 674 A 1

71 Anmelder:  
Siemens AG, 80333 München, DE

72 Erfinder:  
Nießner, Reinhard, Dr., 78532 Tuttlingen, DE;  
Spanner, Günter, Dipl.-Phys., 81375 München, DE

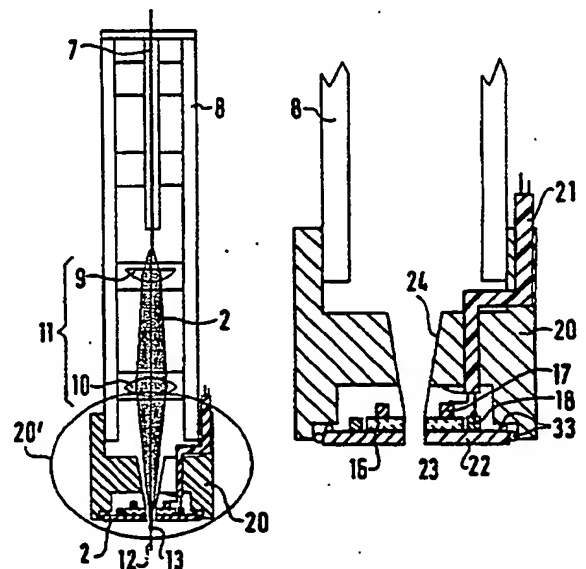
Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

54 Photoakustischer Sensor

57 Nahezu alle im Bereich der medizinischen Blutdiagnostik angewandten Verfahren zur Bestimmung von Blutparametern erfordern einen Eingriff in den menschlichen Körper. Es besteht deshalb ein großes Interesse an der Entwicklung nichtinvasiver Verfahren, da Blutentnahmen entfallen könnten, keinerlei Infektionsgefahr bestünde und sich darüber hinaus die Möglichkeit böte, Blutparameter kontinuierlich zu überwachen.

Ziel der Erfindung ist die Schaffung eines in einem photoakustischen Laserspektrometer verwendbaren Sensors, mit dem sich qualitativ hochwertige Absorptionsspektren eines Analyten aufnehmen lassen.

Der Sensor besteht im wesentlichen aus einer ringförmigen Piezokeramik (16), einer die Piezokeramik (16) und deren Anschlußelektroden (17, 18) tragenden Kupfer- oder Saphirscheibe (15, 22), einer optischen Einheit (9 bis 11) zur Bündelung der am Kopf einer Glasfaser (7) austretenden Laserstrahlung (2) und einer Streulichtblende (24). Da die Brennweite der Optik (9 bis 11) variabel ist, kann man den Laserfokus (13) im Innern der Probe verschieben und Schallwellen in einer definierten Tiefe anregen.



DE 44 00 674 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 05. 95 508 030/9

14/34

## 1. Einführung

Der Glucose- und Cholesterinspiegel, die Hämoglobinkonzentration und der Sauerstoffpartialdruck im Blut gehören zu den wichtigsten Parametern der medizinischen Blutdiagnostik. Nahezu alle derzeit verfügbaren immunologischen, chemischen, elektrochemischen oder optischen Verfahren zur Bestimmung dieser Blutparameter erfordern einen Eingriff in den menschlichen Körper. So müssen beispielsweise einem Typ I-Diabetiker bis zu 12 Blutproben am Tag entnommen werden, um den Blutzuckerspiegel effektiv überwachen zu können. An der Entwicklung nichtinvasiver Verfahren zur Messung von Blutparametern besteht deshalb ein großes Interesse, da Blutentnahmen entfallen könnten, keinerlei Infektionsgefahr bestünde und sich darüberhinaus die Möglichkeit böte, Blutparameter kontinuierlich zu überwachen und die Konzentration von Wirkstoffen im Blutkreislauf zeitabhängig zu verfolgen.

Neben der Überwachung des Blutzuckerspiegels wäre auch die regelmäßige Kontrolle anderer Blutinhaltsstoffe, wie z. B. das im Zusammenhang mit Herz- und Kreislauferkrankungen häufig diskutierte Cholesterin, aus medizinischer Sicht wünschenswert. Außerdem wären Patienten eher bereit, sich regelmäßiger medizinischer Kontrollen zu unterziehen, wenn nichtinvasive und daher völlig schmerzfreie Verfahren zur Verfügung stünden.

## 2. Stand der Technik

In vielen Bereichen der Biologie und der Medizin bedient man sich immer häufiger des Verfahrens der photoakustischen Laserspektroskopie. Die PA-Spektroskopie besitzt gegenüber den klassischen Methoden der Transmissions- oder Reflexionsspektroskopie insbesondere den Vorteil, daß sie die Messung der in einer Probe tatsächlich absorbierten Lichtenergie erlaubt. Sie ist daher prinzipiell wesentlich unempfindlicher gegenüber Streulicht als konkurrierende spektroskopische Verfahren. Diese Eigenschaft wirkt sich insbesondere bei der Untersuchung biologischer Proben oder medizinischer Analyten, wie Haut- bzw. Gewebeschichten oder Blut, vorteilhaft aus, da diese Medien aufgrund ihres zellularen Aufbaus bzw. ihres Zellgehaltes einfallendes Licht sehr stark streuen.

Eine Vorrichtung zur Aufzeichnung des Absorptionsspektrums eines in einer Probe enthaltenen Analyten ist beispielsweise aus der US-A-3,948,345 bekannt. Dieses Spektrometer enthält ein in eine druckdichte Kammer eingebautes Elektretmikrophon, mit dem man die im Füllgas der Kammer angeregten Schallwellen nachweist. Als Schallquelle wirkt die in der Kammer angeordnete Probe, die mit Hilfe eines gepulsten Laserstrahls großflächig beleuchtet und dadurch periodisch aufgeheizt wird.

Eine erheblich einfacher aufgebaute photoakustische Zelle beschreibt D. H. McQueen in J. Phys. E: Sci. Instrum. Vol. 16, 1983, S. 738—739. Sie besteht im wesentlichen aus einem ringförmigen Piezoelement, zwei ebenfalls ringförmigen Kontaktelektroden und einer Saphirscheibe, die bis auf einen als lichtdurchlässiges Fenster dienenden Zentralbereich beidseitig metallisiert ist. Die Bestrahlung der auf dem Zentralbereich angeordneten Probe erfolgt durch die Saphirscheibe, wobei man das

Licht mit Hilfe einer Glasfaser an die Sensorzelle heranführt.

## 3. Aufgabe und Vorteile der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Schaffung eines einfach aufgebauten photoakustischen Sensors, mit dem sich auch durch stark lichtstreuende Medien hindurch qualitativ hochwertige Absorptionsspektren eines Analyten aufnehmen lassen. Außerdem soll der Sensor eine nichtinvasive Bestimmung von Blutinhaltsstoffen ermöglichen. Diese Aufgaben werden erfindungsgemäß durch einen photoakustischen Sensor mit den in Patentanspruch 1 angegebenen Merkmalen gelöst.

Der mit der Erfindung erzielbare Vorteil besteht insbesondere darin, daß man den Sensor direkt auf die menschliche Haut aufsetzen und das Absorptionsspektrum eines Blutinhaltsstoffs in-vivo messen kann. Hierbei ist es ohne weiteres möglich, den Strahlungsfokus direkt in einen blutführenden Bereich des Gewebes zu legen. Außerdem lassen sich durch Messung von Signallaufzeiten auch Tiefenprofile des Analyten erstellen.

## 4. Figuren

Die Erfindung wird im folgenden anhand der Zeichnungen erläutert. Hierbei zeigt:

Fig. 1 die Anregung akustischer Schockwellen in einem biologischen Gewebe,

Fig. 2 und 3 Ausführungsbeispiele erfindungsgemäßer Sensoren für die nicht invasive Bestimmung von Blutinhaltsstoffen,

Fig. 4 den Aufbau eines photoakustischen Laserspektrometers,

Fig. 5 ein Ausgangssignal des photoakustischen Sensors und ein daraus abgeleitetes Signal,

Fig. 6 ein Absorptionsspektrum von Hämoglobin,

Fig. 7 pathologische Blutspektren,

Fig. 8 das optische Spektrum einer verdünnten Hämoglobininlösung,

Fig. 9 ein photoakustisches Spektrum von Human-Vollblut (Originaldaten und Fit durch kubische Splinfunktionen),

Fig. 10 die Abnahme der PA-Signalamplitude mit zunehmender Dicke einer zwischen Analyt und Sensor vorhandenen Schicht,

Fig. 11 die Abhängigkeit der Laufzeit der akustischen Wellen in Abhängigkeit von der Dicke einer zwischen Analyt und Sensor vorhandenen Schicht,

Fig. 12 PA-in-vivo-Spektren.

## 5. Erzeugung und Nachweis akustischer Schockwellen

Bestrahlt man eine Probe 1, insbesondere menschliches Gewebe, mit intensitätsmoduliertem Laserlicht 2, so wird die Strahlung im durchleuchteten Volumen 3 zumindest teilweise absorbiert und durch nicht strahlende Relaxationsprozesse in Wärme umgewandelt. Aufgrund der Erwärmung dehnt sich das durchstrahlte Volumen 3 aus, gibt dabei die in ihm deponierte Wärmeenergie an die Umgebung ab und kontrahiert schließlich wieder. Dieser sich mit der Modulationsfrequenz des Laserlichtes 2 wiederholende Vorgang erzeugt akustische Schockwellen 4, die sich in der Probe 1 ausbreiten und mit Hilfe eines auf der Probenoberfläche angeordneten Sensors 5 nachgewiesen werden. Der Sensor 5 mißt hierbei eine Schalldruckamplitude  $P(\beta, E_p, x)$ , die sich näherungsweise zu

$$P(\beta, E_p, x) = \frac{\beta \epsilon v_s}{C_p} \cdot \frac{E_p}{\tau_1} \cdot \frac{1}{2\pi \sqrt{r \cdot x}}$$

P: Schalldruckamplitude  
 β: Absorptionskoeffizient  
 ε: Expansionskoeffizient  
 v<sub>s</sub>: Schallgeschwindigkeit im Medium  
 C<sub>p</sub>: Spezifische Wärmekapazität der Probe  
 E<sub>p</sub>: Pulsenergie des Lasers  
 τ<sub>1</sub>: Pulsdauer des Lasers  
 r: Laserstrahldurchmesser  
 x: Entfernung des Detektors vom Laserstrahl berechnet.

Die menschliche Haut und das darunterliegende Gewebe streuen einfallendes Licht sehr stark, absorbieren im sichtbaren Bereich aber kaum. In diesen Medien lassen sich Schallwellen daher nicht oder nur sehr schwach photoakustisch anregen. Dem gegenüber besitzt das in den roten Blutkörperchen enthaltene Hämoglobin im Wellenlängenbereich zwischen 500 nm und 600 nm eine starke Absorptionsbande, so daß Blutadern 6 die Hauptquellen photoakustisch erzeugter Schallwellen 4 sind.

## 6. Ausführungsbeispiele photoakustischer Sensoren

### 6.1. Erstes Ausführungsbeispiel

Die Fig. 2 zeigt den schematischen Aufbau eines für die *in vivo*-Messung von Blutparametern geeigneten Sensors, dem man das gepulste Laserlicht (Wellenlänge λ = 520 nm bis 600 nm, Pulsenergie E<sub>p</sub> = 10 μJ ... 1 mJ, Impulsbreite τ<sub>1</sub> = 10<sup>-8</sup> s) über eine optische Quarzglasfaser 7 zuführt. Die Länge dieser im oberen Gehäuseteil 8 des Sensors befestigte Glasfaser 7 bis zu dem die Strahlung erzeugenden Farbstofflaser beträgt etwa 5 Meter, ihr Core-Durchmesser etwa 1000 μm. Da das am Kopf der Glasfaser 7 austretende Laserlicht 2 stark divergent ist (halber Strahlöffnungswinkel θ = 17°) wird es mit Hilfe der aus zwei Linsen 9/10 bestehenden Optik 11 (f ≤ 2 cm) gebündelt und in einen auf der Strahlachse 12 liegenden Punkt 13 fokussiert. Um die Brennweite der Optik 11 einstellen und damit den Fokus 13 des Laserlichts 2 in unterschiedliche Tiefen der Probe legen zu können, ist die untere Linse 10 im Sensorgehäuse 8 verschiebbar gehalten. Auf diese Weise läßt sich der Punkt 13 maximaler Lichtintensität beispielsweise direkt in eine Blutader legen (vgl. Fig. 1).

Die durch die Fokussierung der Laserstrahlung bedingte Reduktion der aus oberflächennahen oder tieferliegenden Schichten stammenden Untergrundsignale tritt insbesondere bei der Untersuchung schwach streuender Proben in Erscheinung, da hier der ausgeleuchtete Bereich in seiner Größe annähernd dem von der Optik 11 erzeugten Strahlungsfokus entspricht und das im Sensor registrierte photoakustische Signal somit aus einer definierten Probentiefe stammt. In einem biologischen Gewebe wird aufgrund der starken Streuung des einfallenden Lichtes ein deutlich größeres Probenvolumen bestrahlt (vgl. Fig. 1), mit der Folge, daß auch der Störsignalpegel entsprechend ansteigt. Den Hauptbeitrag zum photoakustischen Signal liefert aber auch hier wieder das im Bereich der maximalen Lichtintensität, also im Fokus 13 der Optik 11 vorhandene Material.

Zum Nachweis der angeregten Schockwellen verwendet der erfindungsgemäße Sensor eine in einem Aluminiumgehäuse 14 auf der versilberten Oberfläche

einer Saphirscheibe 15 (Dicke: 2 mm, Durchmesser: 25 mm) angeordnetes druckempfindliches Element. Es besteht aus einer ringförmigen Piezokeramik 16 (PZT, 5A), deren Innendurchmesser 4 mm und deren Außendurchmesser 10 mm beträgt. Ein elektrisch leitender Kleber sorgt für eine feste Verbindung zwischen der Piezokeramik 16 und der Saphirscheibe 15. Deren Zentralbereich ist innerhalb einer einen Durchmesser von etwa 4 mm aufweisenden Kreisfläche nicht metallisiert, um den Durchtritt der Laserstrahlung 2 in die Probe zu ermöglichen. Die elektrische Kontaktierung der Piezokeramik 16 erfolgt über zwei Kupferringe 17, 18, die direkt auf die Piezokeramik 16 bzw. auf die versilberte Fläche der Saphirscheibe 15 geklebt sind.

Da selbst geringste Lichtintensitäten im druckempfindlichen Element aufgrund der pyroelektrischen Eigenschaften der Piezokeramik 16 ein großes Untergrundsignal hervorrufen können, ist der Sensor mit einer beispielsweise aus Messing bestehenden Streulichtblende 19 ausgestattet. Sie besitzt in dem gezeigten Ausführungsbeispiel die Form eines sich in Richtung der Saphirscheibe 15 verjüngenden und symmetrisch zur Strahlachse 12 angeordneten Kegelstumpfes, dessen hohlzylindrischer Fortsatz von der ringförmigen Piezokeramik 16 gehalten wird. Mit Hilfe einer im Bereich des Brennpunktes der Linse 9 befestigten Lochblende 19' läßt sich das im oberen Teil 8 des Sensorgehäuses entstehende Streulicht ebenfalls wirkungsvoll abschirmen. Alle diese Maßnahmen tragen dazu bei, das durch Streulicht erzeugte Untergrundsignal um annähernd zwei Größenordnungen zu reduzieren und die Empfindlichkeit des Sensors entsprechend zu erhöhen.

Da der gesamte untere Teil 14 des Sensorgehäuses aus Aluminium besteht und elektrisch mit der Masse der Nachweiselektronik verbunden ist, werden auch elektromagnetische Einstreuungen weitgehend unterdrückt.

### 6.2. Zweites Ausführungsbeispiel

Alle aktiven Komponenten des in Fig. 3 dargestellten Sensors sind in einem geschlossenen Metallgehäuse 20 angeordnet. Das aus Aluminium bestehende Gehäuse 20 bildet einen Faraday-Käfig 20', der die ringförmige Piezokeramik 16 und deren elektrische Anschlüsse 17, 18 und 21 sehr gut gegen hochfrequente elektromagnetische Streustrahlung abschirmt. Um die Kosten und den technischen Aufwand für die Herstellung des Sensors zu verringern, wurde die in Fig. 2 mit 15 bezeichnete Saphirscheibe durch eine gleich große, etwa 0,2 mm dicke Kupferscheibe 22 mit einer als Strahldurchtrittsfenster dienenden zentralen Bohrung 23 (Durchmesser: 4 mm) ersetzt.

Zur Isolation des Sensorkopfes von der Probe, kann die die Piezokeramik 16 tragende und mittels zweier Vitonringe 33 gehaltene Kupferscheibe 22 noch mit einem elektrisch isolierenden Lack beschichtet sein. Die Verwendung eines aus der Ultraschall Diagnostik bekannten Kontaktgels bietet sich ebenfalls an, um den Sensorkopf insbesondere an biologische Proben akustisch anzukoppeln, dadurch die unterschiedlichen Impedanzen aneinander anzupassen und so für eine optimale Transmission akustischer Energie zu sorgen.

Als Streulichtabschattung dient wieder eine kegelförmige Blende 24, die im gezeigten Ausführungsbeispiel in einer entsprechend ausgebildeten Bohrung des unteren Gehäuseteils 20 angeordnet ist und sich mit ihrem hohlzylinderförmigen Fortsatz bis in den Bereich der Kupferscheibe 22 erstreckt.

### 6.3. Mögliche Abwandlungen des photoakustischen Sensors

Die Erfindung ist selbstverständlich nicht auf die oben beschriebenen Ausführungsbeispiele beschränkt. So ist es ohne weiteres möglich, die Linse 9 unbeweglich im oberen Gehäuseteil 8 zu montieren, dieses relativ zum Sensorkopf 20 zu verschieben und dadurch die Lage des Fokus 13 auf der optischen Achse 12 zu ändern. Anstelle einzelner Linsen 9 und 10 kann man selbstverständlich auch Gruppen von Linsen, insbesondere sogenannte Zoom-Linsen als abbildende Elemente verwenden.

Die Streulichtblende 24 muß nicht notwendigerweise die Form eines Kegelstumpfes aufweisen. Sie kann insbesondere auch als Hohlzylinder oder als Lochblende ausgebildet sein.

### 7. Aufbau des photoakustischen Laserspektrometers

Die Fig. 4 zeigt den Aufbau eines mit einem erfindungsgemäßen Sensor 25 ausgestatteten Laserspektrometers, das einen durch ein Eximer-Laser 26 gepumpten Farbstofflaser 27 als Lichtquelle enthält. Da der Farbstoff-Laser 27 mit Coumarin 153 beschickt ist, kann man ihn im Wellenlängenbereich von 520 nm bis 600 nm durchstimmen. Der Signalgenerator 28 dient der Steuerung des Systems. Er erzeugt sowohl die Triggerimpulse für den Eximer-Laser 26 als auch das Referenzsignal für den Lock-in-Verstärker 29. Auf diese Weise läßt sich das photoakustische Nutzsignal aufgrund seiner festen Phasenbeziehung zum jeweiligen Laserimpuls sehr empfindlich auch aus einem relativ hohen Rauschuntergrund herausfiltern. Das vom Sensor 25 erzeugte und im unteren Teil der Fig. 5 dargestellte photoakustische Signal wird einer aus einem Vorverstärker und einem elektronischen Impulsdehner bestehenden Einheit 30 zugeführt, dort in ein im oberen Teil der Fig. 5 dargestelltes Signal umgewandelt (die Zerfallzeit des Signals wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit zu 20 µsec. gewählt, sie läßt sich aber ohne weiteres auf bis zu 10 msec. verlängern) und im Lock-in-Verstärker 29 weiterverarbeitet. Eine Umformung des photoakustischen Signals ist notwendig, da die maximale Impulswiederholrate des Lasersystems nur etwa 100 Hz beträgt und die Impulsbreite bei etwa 10 nsec. liegt. Die im Sensor 25 registrierten photoakustischen Impulse besitzen somit Halbwertsbreiten von etwa 0,1 µs ... 1 µs, woraus sich ein Taktverhältnis (PA-Impulsdauer/Impulsabstand > 10 ms) in der Größenordnung 1 : 10<sup>4</sup> bis 1 : 10<sup>5</sup> errechnet. Da der Lock-in-Verstärker jedoch nur bei Taktverhältnissen von 1 : 10 bis 1 : 100 effektiv arbeitet, ist eine Impulsdehnung um einen Faktor 1000 erforderlich.

Mittels eines von einem Rechner 31 angesteuerten Schrittmotors am Beugungsgitter des Farbstofflasers 27 wird dessen Emissionswellenlänge durchgestimmt. Da die Schrittweite von 0,5 nm kleiner ist als die typische Halbwertsbreite von Absorptionsbanden in flüssigen Medien ( $\Delta\lambda > 10$  nm), ergibt sich eine hinreichend gute spektrale Auflösung. Die vom Lock-in-Verstärker 29 gebildeten Signalamplituden werden digitalisiert, ausgelesen und zusammen mit der jeweiligen Wellenlänge des Laserlichts im Rechner 31 in Form einer Matrix zur weiteren Auswertung abgespeichert.

## 8. Messungen an Hämoglobin

### 8.1. Hintergrund

Einer der wichtigsten Blutinhaltsstoffe ist das für den Sauerstofftransport verantwortliche Hämoglobin (Hb), das im Wellenlängenbereich von 500 nm bis 600 nm eine starke Absorptionsbande, das sogenannte Q-Band, besitzt. Diese charakteristische Bande bot sich für erste Tests des Sensors an, zumal mit Coumarin 153 ein für diesen Wellenlängenbereich idealer Laserfarbstoff zur Verfügung stand. Aber auch wegen ihrer großen Bedeutung in der medizinischen Diagnostik bestand ein erhebliches Interesse an der Aufzeichnung von Hämoglobinspektren.

Wie aus Fig. 6 ersichtlich, ändert sich die Absorptionsbande des Hämoglobins mit der Sauerstoffbeladung des Blutes, wobei das Absorptionsspektrum von HbO<sub>2</sub> im Wellenlängenbereich zwischen 500 nm und 600 nm eine charakteristische Höckerstruktur aufweist. Es besteht somit die Möglichkeit, den Sauerstoffpartialdruck im Blut durch Analyse der Hb-Absorptionsspektren zu bestimmen.

Die Fig. 7 soll den Einfluß von Blutkrankheiten auf das Absorptionsspektrum des Hämoglobins verdeutlichen. Man erkennt, daß Blutkrankheiten einen starken Einfluß auf das Q-Band haben und damit auch das Absorptionsspektrum in charakteristischer Weise ändern.

Die in den Fig. 6 und 7 dargestellten Spektren wurden bereits mit Hilfe der photoakustischen Spektroskopie aufgenommen. Zur Aufzeichnung der Spektren mußte den Patienten allerdings erst Blut entnommen werden um dieses anschließend in einem modifizierten kommerziellen Spektralphotometer untersuchen zu können. Die Aufzeichnung eines Blutspektrums hinreichender Qualität unter Anwendung eines nichtinvasiven Verfahrens würde hingegen eine schnelle und vollkommen schmerzfreie Blutdiagnose ermöglichen.

### 8.2. Experimentielle Ergebnisse

Die Fig. 8 zeigt ein als Referenz dienendes optisches Spektrum einer verdünnten Hämoglobinlösung. Zur Herstellung der Lösung wird 1 ml Human-Vollblut in 99 ml destilliertem Wasser aufgelöst so daß der osmotische Schock die Erythrozyten zerstört und das in ihnen konzentrierte Hämoglobin freisetzt. Läßt man die Zellreste sedimentieren, entsteht eine trübungsfreie leicht rötlich gefärbte Hb-Lösung, die man nun in einem kommerziellen Spektralphotometer untersuchen kann.

Ein mit Hilfe der in Abschnitt 7 beschriebenen Vorrichtung aufgenommenes Spektrum von unverdünntem Human-Vollblut zeigt Fig. 9. Zur Simulation einer Hautschicht war während der Messung eine 0,12 mm starke Vinylmembran zwischen dem Sensorkopf und der Blutprobe angeordnet. Vinyl ist wie die menschliche Haut ein im untersuchten Wellenlängenbereich schwach absorbierendes, jedoch stark streuendes Medium. Im photoakustischen Spektrum erkennt man deutlich die beiden Absorptionslinien des Hämoglobins bei 540 nm und 575 nm. Auch die relativen Höhen und Breiten dieser Linien stimmen gut mit denen des optischen Referenzspektrums überein. Die geringfügigen Abweichungen ergeben sich unter anderem daraus, daß außer den optischen Parametern auch die thermischen Eigenschaften der Probe das photoakustische Spektrum beeinflussen. Für die Aufnahme des in Fig. 8 dargestellten Spektrums benötigt man etwa 3,5 Minuten. Die Meßzeit ließe sich jedoch bei Beschränkung auf analytisch signifikante Wellenlängen erheblich verringern.

Wird die Dicke des zwischen der Blutprobe und dem Sensorkopf vorhandenen Mediums durch Einfügen wei-

terer Vinylschichten schrittweise vergrößert, so beobachtet man eine rasche Abnahme der Signalamplitude (s. Fig. 10). Dies ist zum Teil darauf zurückzuführen, daß die Vinylschichten untereinander nur einen relativ schlechten akustischen Kontakt besitzen und sich der Streulichtkoeffizient in Vielschichtsystemen erheblich vergrößert. Man kann deshalb davon ausgehen, daß die Abnahme der Signalamplitude mit zunehmender Dicke des Gewebes in einem realen biologischen System weniger stark ausgeprägt ist.

Zur Normierung gemessener Signalamplituden benötigt man Informationen über die Dicke des zwischen dem Sensor und dem Analyten vorhandenen Mediums. Diese läßt sich in der photoakustischen Spektroskopie beispielsweise aus der Laufzeit der akustischen Wellen ableiten. Wie erste Messungen an Vinylschichten unterschiedlicher Dicke zeigen, kann man hierbei eine Tiefenauflösung in der Größenordnung von etwa 0,1 mm erwarten (s. Fig. 11).

### 8.3. In-vivo-Messungen

Die Fig. 11 zeigt erste PA-Absorptionsspektren, die durch in-vivo-Messungen an drei Versuchspersonen unter Verwendung der in Fig. 4 dargestellten Vorrichtung aufgenommen wurden. Als Referenz dient ein in-vitro-PA-Spektrum von Human-Vollblut. Zur Aufnahme der mit Hilfe einer kubischen spline-Funktion geglätteten Spektren wurde jeweils der kleine Finger der linken Hand auf die Sensorfläche gelegt und leicht angedrückt. Als Kontaktmittel diente ein aus dem Bereich der sonografischen Diagnostik bekanntes Ultraschall-Kontaktgel. Eine Messung des auf den Finger ausgeübten Drucks fand nicht statt.

In allen drei Spektren beobachtet man die Absorptionslinien des Hämoglobins bei etwa 540 nm und 575 nm. Zwischen den Absorptionsmaxima nimmt das photoakustische Signal bei allen drei Versuchspersonen ab, wobei das Absorptionsminimum jedoch unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Die Schwankungen in der absoluten Höhe der photoakustischen Signale können durch anatomische Unterschiede (Hämatokritwert, Gewebedurchblutung und Dicke der Gewebeschicht) verursacht sein. Unterschiedliche Andruckkräfte und die daraus resultierenden Änderungen der akustischen Kopplung spielen sicher ebenfalls eine wesentliche Rolle.

### 9. Schlußfolgerung und Ausblick

Mit Hilfe des photoakustischen Lasersensors lassen sich auch durch stark lichtstreuende Medien (Haut- bzw. Gewebeschichten) hindurch qualitativ hochwertige Spektren von stark absorbierenden Analyten (z. B. Vollblut) aufnehmen.

Der auf einem piezoelektrischen Schalldruckwandler basierende Sensor besitzt eine große dynamische Bandbreite ( $f_{-3\text{ dB}} > 1\text{ MHz}$ ). Durch Messung der Laufzeit der photoakustischen Schockwelle lassen sich Tiefenprofile in biologischen Geweben mit einer räumlichen Auflösung von etwa 1/10 mm erstellen.

Erste in-vivo-Spektren zeigen die Absorptionsmaxima bei den für  $\text{HbO}_2$  typischen Wellenlängen.

In Folge des kleinen Störsignaluntergrundes lassen sich auch Absorptionsbanden von Analyten mit geringer Konzentration im Blut noch signifikant nachweisen.

### Patentansprüche

1. Photoakustischer Sensor mit
  - einem schallempfindlichen Element (16 bis 18),
  - einem elektromagnetische Strahlung (2) emittierenden Element (7),
  - einer optischen Einheit (9 bis 11) zur Erzeugung eines im Innern der Probe liegenden Strahlungsfokus (13) und
  - einer Einrichtung (17, 24) zur Abschirmung des schallempfindlichen Elementes (16 bis 18) vor elektromagnetischer Streustrahlung.
2. Photoakustischer Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Einrichtung (15, 24) zur Abschirmung zwischen der optischen Einheit (9 bis 11) und dem schallempfindlichen Element (16 bis 18) angeordnet ist.
3. Photoakustischer Sensor nach Anspruch 1 oder 2, gekennzeichnet durch eine Blende (17, 24) als Einrichtung zur Abschirmung.
4. Photoakustischer Sensor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Blende (17, 24) die Form eines sich in Richtung des schallempfindlichen Elements (16 bis 18) verjüngenden Kegels aufweist.
5. Photoakustischer Sensor nach Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, daß das schallempfindliche Element (16 bis 18) in einem Gehäuse (20) angeordnet ist, daß das Gehäuse (20) eine der optischen Einheit (9 bis 11) gegenüberliegende erste Bohrung aufweist und die Blende (24) in der ersten Bohrung angeordnet ist.
6. Photoakustischer Sensor nach Anspruch 5, gekennzeichnet durch eine konische erste Bohrung.
7. Photoakustischer Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das schallempfindliche Element (16 bis 18) auf einem auf der Probe aufliegenden oder mit dieser akustisch gekoppelten Trägerkörper (15, 22) angeordnet ist, wobei der Trägerkörper (15, 22) einen für die elektromagnetische Strahlung (2) transparenten Bereich oder eine Bohrung (23) zum Durchtritt der elektromagnetischen Strahlung (2) aufweist.
8. Photoakustischer Sensor nach einem der Ansprüche 5 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Gehäuse (20) eine vom Trägerkörper (22, 23) abgeschlossene probenseitige Bohrung aufweist.
9. Photoakustischer Sensor nach einem der Ansprüche 3 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das schallempfindliche Element (16 bis 18) und die Blende (24) in einem unteren Gehäuseteil (20) und die optische Einheit (9 bis 11) in einem oberen Gehäuseteil (8) angeordnet sind.
10. Photoakustischer Sensor nach einem der Ansprüche 3 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß der obere und der untere Gehäuseteil (8, 14, 20) relativ zueinander verschiebbar sind.
11. Photoakustischer Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das schallempfindliche Element (16 bis 18) ringförmig ausgebildet ist und aus einem piezoelektrischen Material besteht.
12. Photoakustischer Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 11, gekennzeichnet durch einen aus Saphir oder einem Metall bestehenden Trägerkörper (15, 22).
13. Photoakustischer Sensor nach einem der An-

sprüche 1 bis 12, gekennzeichnet durch eine eine variable Brennweite aufweisende optische Einheit (9 bis 11).

14. Photoakustischer Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die optische Einheit (11) aus zwei relativ zueinander verschiebbaren Linsenelementen (9, 10) besteht.

15. Photoakustischer Sensor nach Anspruch 14, gekennzeichnet durch eine zwischen den beiden Linsenelementen (9, 10) angeordnete Streulichtblende (19').

16. Verwendung eines photoakustischen Sensors nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche zur in-vivo-Messung des Absorptionsspektrums eines Blutinhaltsstoffes.

---

Hierzu 7 Seite(n) Zeichnungen

---

20

25

30

35

40

45

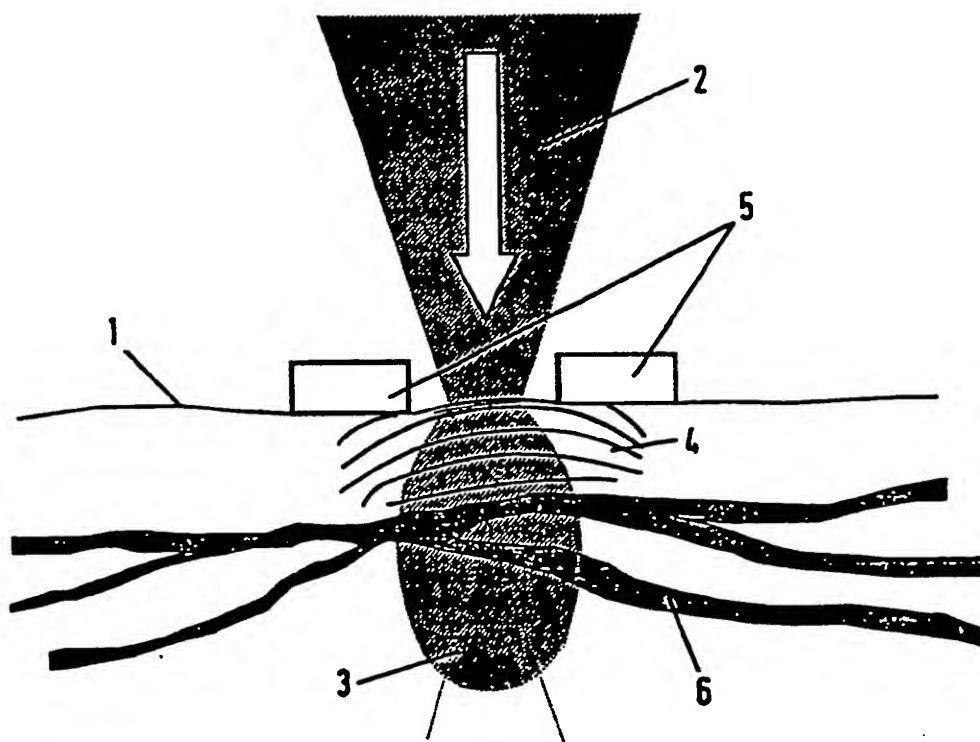
50

55

60

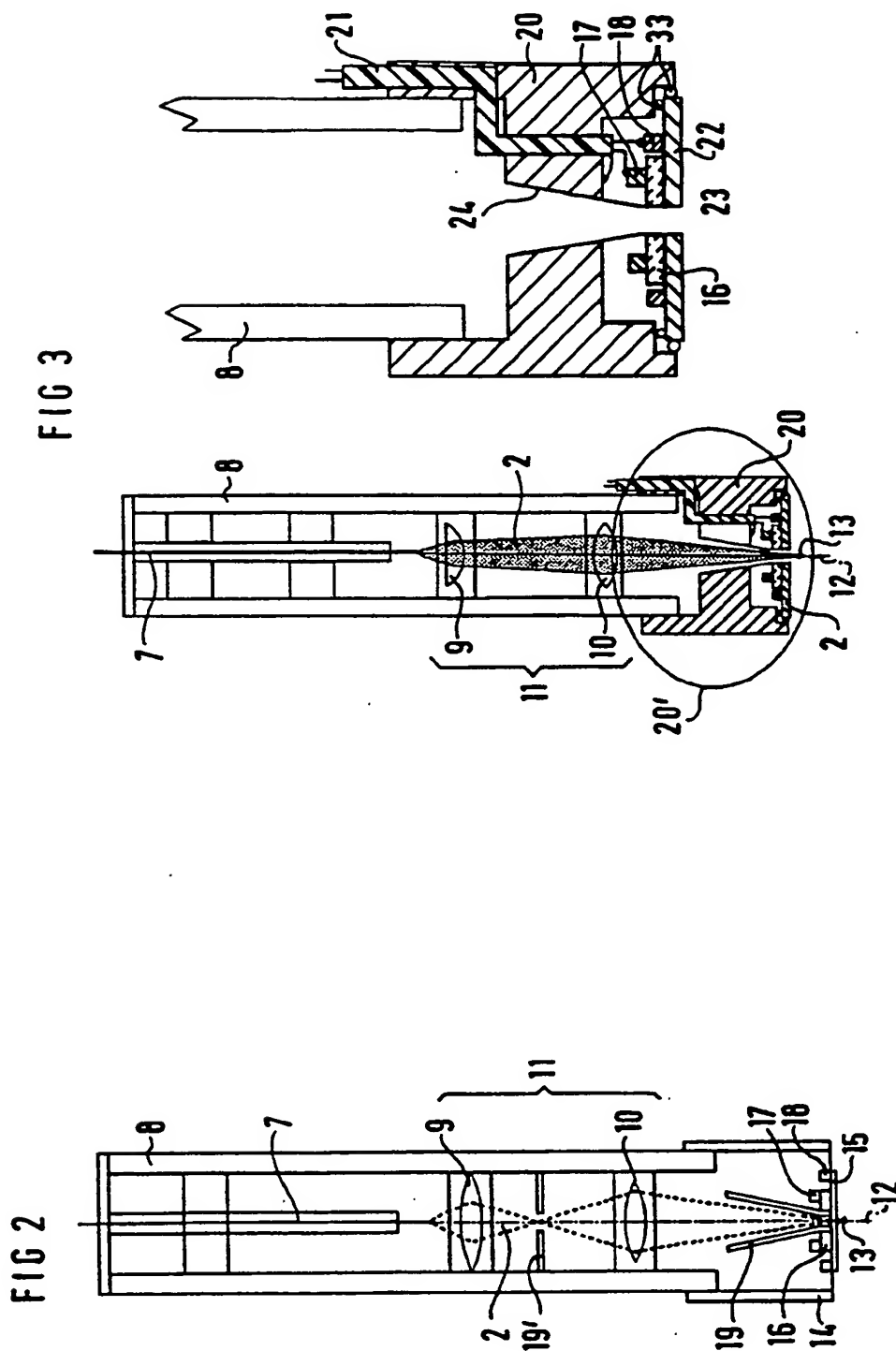
65

FIG 1



- Leerseite -





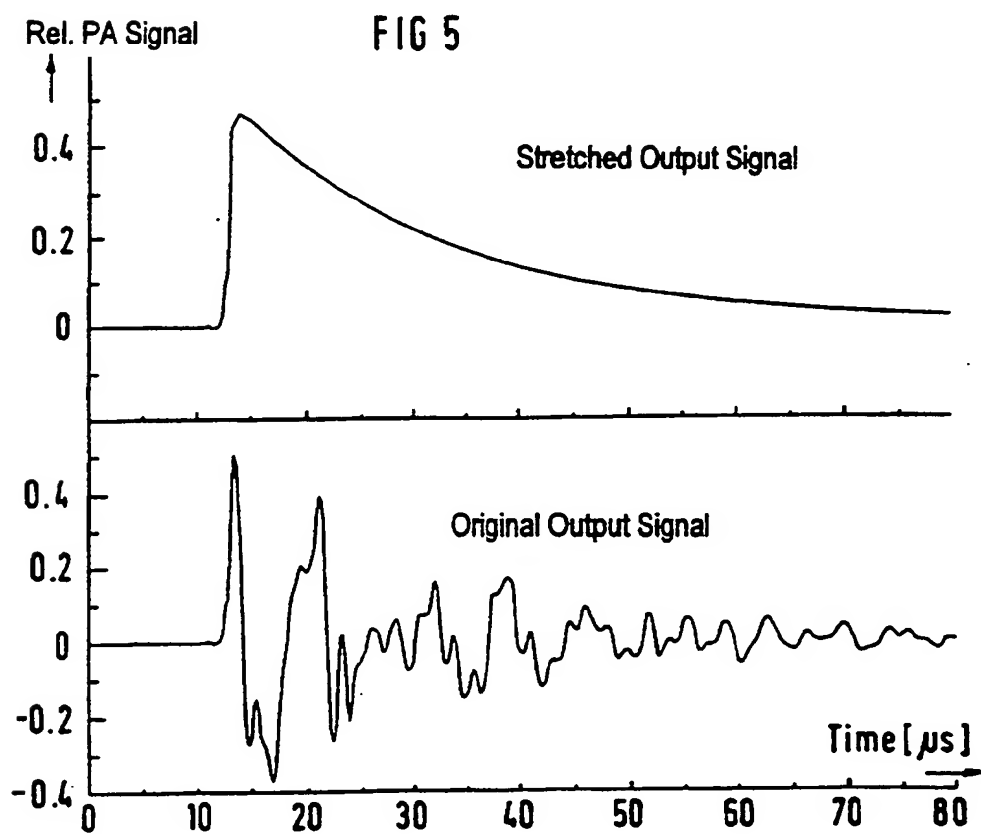
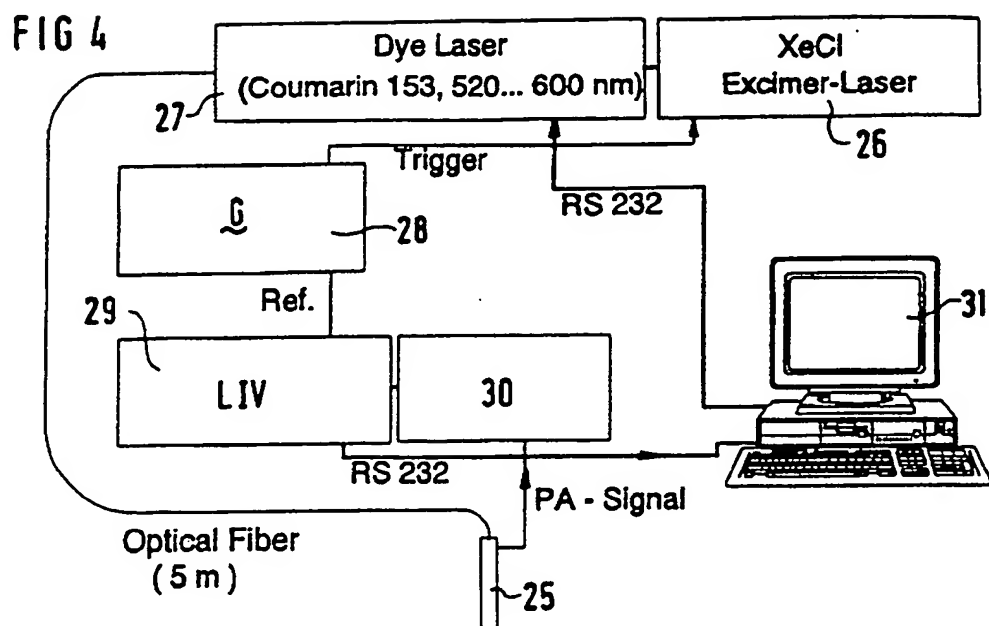
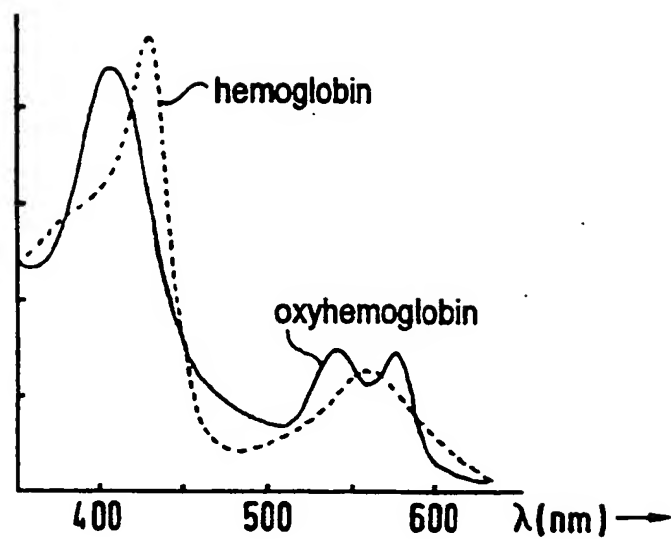
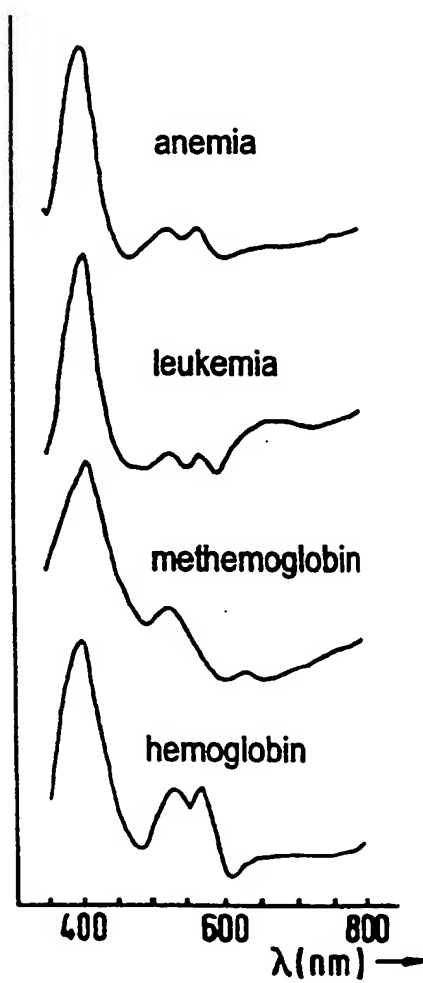


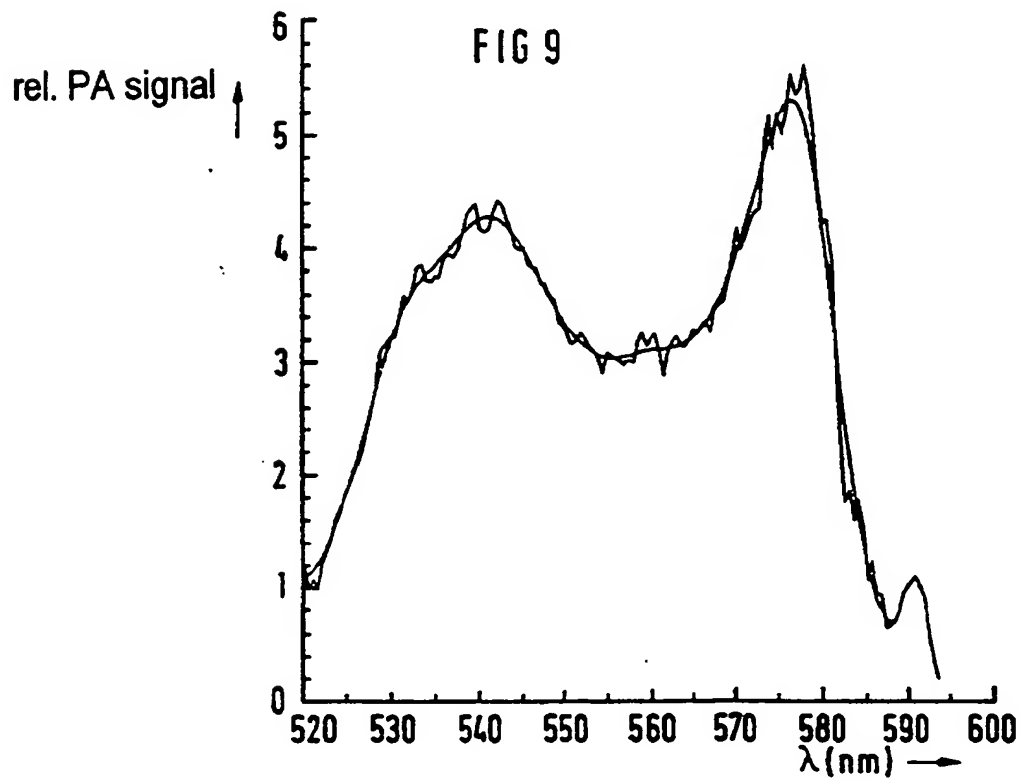
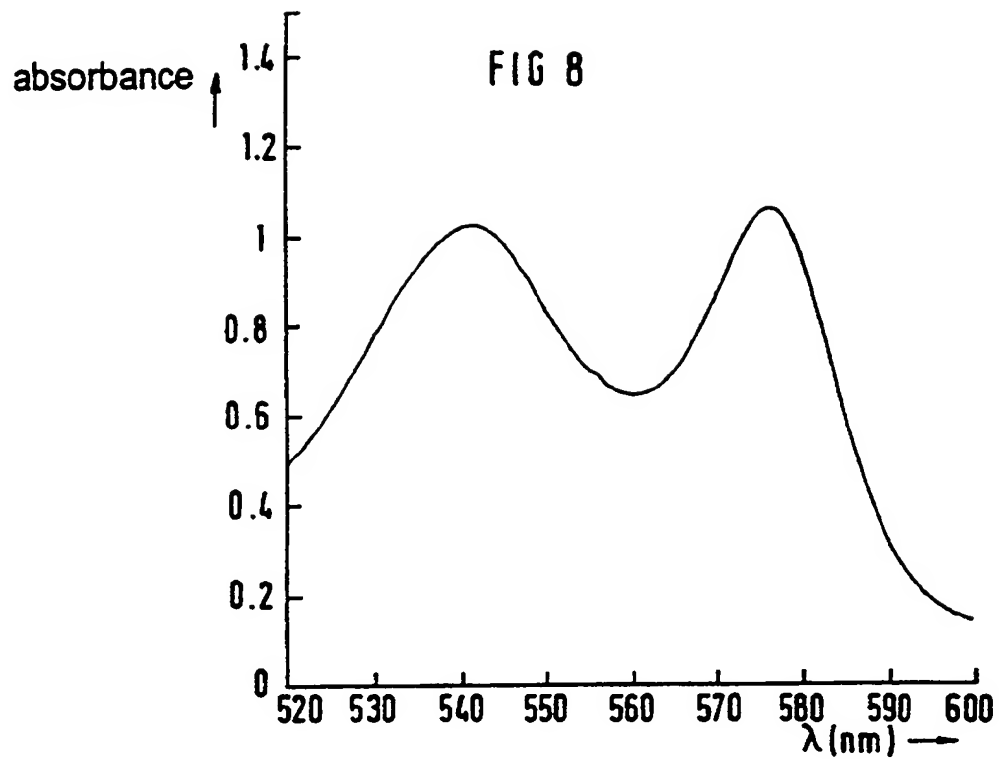
FIG 6



Photoacoustic  
Signal  $\uparrow$

FIG 7





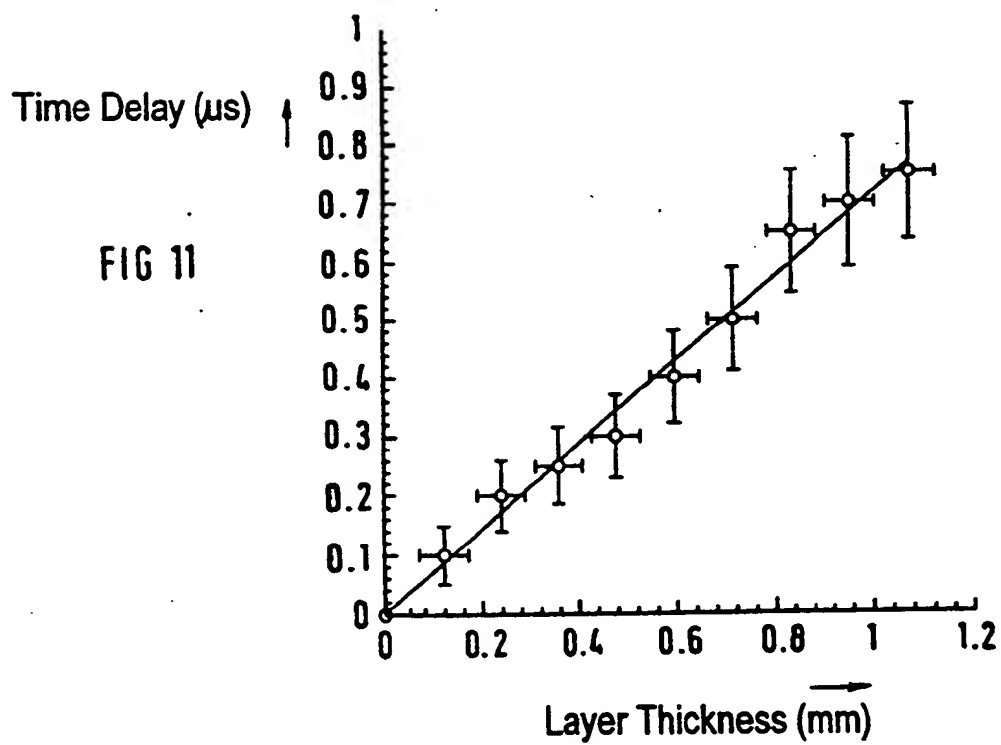
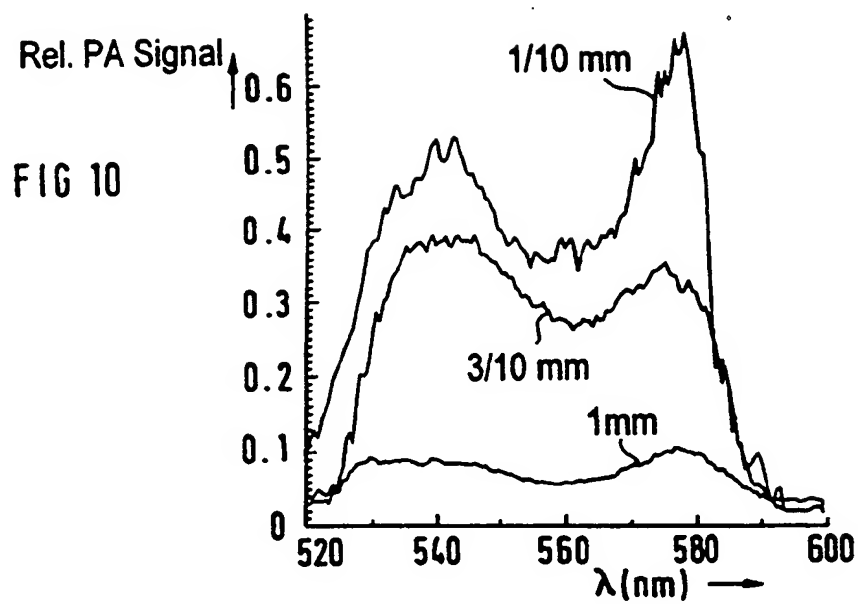
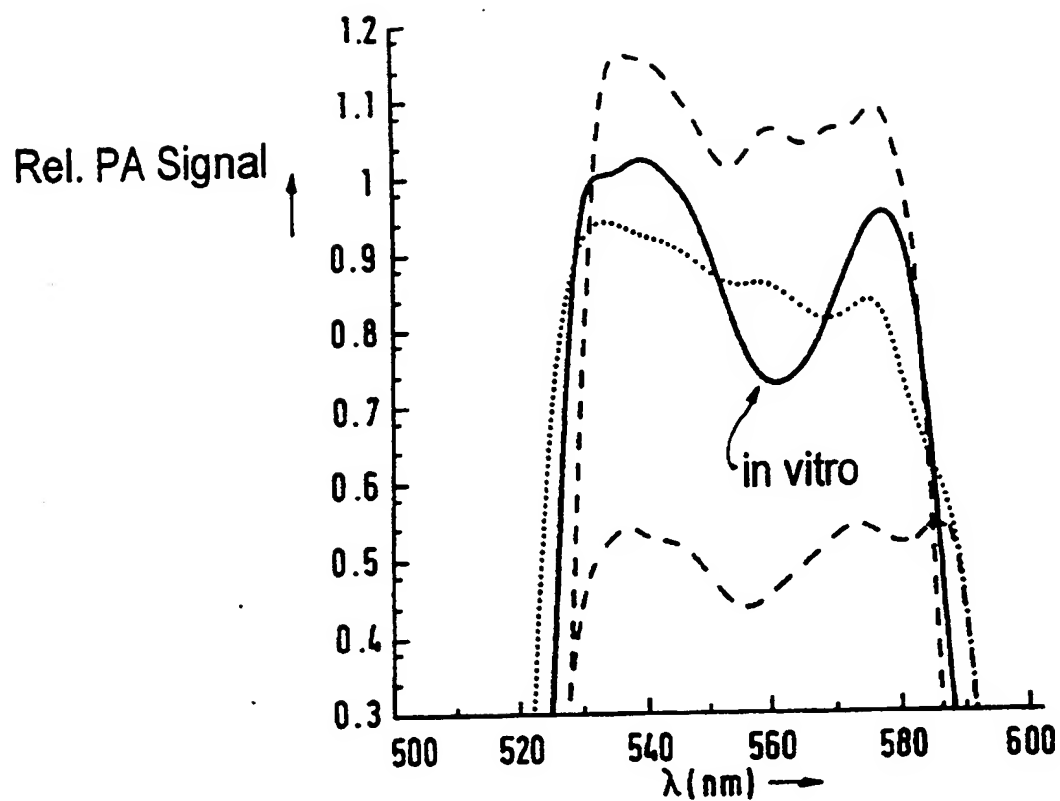


FIG 12



(19) Federal Republic of Germany

**(12) Patent**

**(10) DE 44 00 674 C2**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

**G 01 N 21/31**

G 01 N 33/49

G 12 B 17/00

G 01 B 17/00

A 61 B 5/14

**German Patent Office**

(21) Reference: P 44 00 674.8-52

(22) Application date: 1/12/94

(43) Disclosure date: 7/ 27/95

(45) Date granting of the patent made public: 10/26/95

Objection may be raised within 3 months of the date that the granting of the patent was made public.

---

(73) Patent holder:

Siemens AG, 80333 Munich, Germany

(72) Inventor: Niessner, Reinhard, Dr., 78532 Tuttlingen, DE

Spanner, Guenter, Dipl.-Phys., 81375 Munich, Germany

(56) Documents taken into consideration for the evaluation of patent worthiness:

DE-GM 80 08 158

US 39 48 345

KOCH, K. P. et al., Optoacoustic detection of sulfur dioxide below the parts per billion level in : Applied Physics Letters 32(5), March 1, 1978, S. 289-291;

ADELHEIM, K., Laser induced photoacoustic spectroscopy in liquid samples: temperature and solvent effects, in "Fresenius Journal of Analytical Chemistry (1990) 338, S. 259 – 264.;

McQueen, D. H., A simplified open photoacoustic cell and its applications, in: Journal of Physics E: Scientific Instruments, Vol. 16, 1983, S. 738,739;

---

(54) Photoacoustic Sensor

(57) Nearly all of the procedures in the field of medicinal blood diagnostics that are used for the purpose of determining blood parameters require an intervention inside of the human body. There is therefore great interest in the development of non invasive procedures, since the drawing of blood could thus be eliminated, there would be no

danger of infection and, moreover, the possibility would be at hand to monitor blood parameters continually.

The goal of the invention is to devise a sensor that can be used in a photoacoustic laser spectrometer, by means of which a qualitatively high-value absorption spectra can be recorded for an analyte.

The sensor is, in essence, comprised of a ring-shaped piezoceramic (16) and a copper or sapphire disk (15, 22) that bears its connecting electrodes (17, 18), an optical unit (9 to 11) for concentrating the laser beam (2) that exits at the head of a glass fiber (7) and a scattered light diaphragm (24). Since the focal length of the optics (9 – 11) is variable, one can shift the laser focus (13) inside the sample and stimulate sound waves at a defined depth.

Photoacoustic laser spectroscopy, determination of blood contents.

## Specification

### 1. Introduction

The levels of glucose and cholesterol, the hemoglobin concentration and the partial pressure of oxygen in the blood are among the most important parameters of medical blood diagnostics. Nearly all immunological, chemical, electrochemical or optical procedures available today for the determination of these blood parameters require intervention inside the human body. Thus, for example, a type 1 diabetic must have up to as many as 12 blood samples taken per day in order to be able to effectively monitor blood sugar level. There is thus great interest in the development of non invasive procedures for measuring blood parameters, since the drawing of blood can be eliminated, there would be no danger of infection and, moreover, the possibility would be at hand to continually monitor blood parameters and to follow the concentration of materials in the blood circulation in a time dependent manner.

In addition to monitoring blood sugar level, the routine checking of other blood contents such as, for example, cholesterol, which is frequently discussed with respect to cardiac and circulatory illnesses, would also be desirable from the medical point of view.

Additionally, patients would be more likely to subject themselves to routine medical checks if non invasive and therefore completely pain free procedures were available.

### 2. State of the art

In many areas of biology and medicine more and more use is being made of the procedure of photoacoustic laser spectroscopy. PA spectroscopy, as compared to the classical methods of transmission or reflection spectroscopy, has, in particular, the advantage that it permits the measurement of the light energy that is actually absorbed in a sample. It is therefore in principle essentially less sensitive to scattered light than competing spectrographic procedures. This property turns out to be of particular advantage in the investigation of biological samples for medicinal analysis, such as skin or sections of tissue or blood, since these media scatter impinging light very strongly as a result of their cellular construction or their cell contents.



A device to record the absorption spectrum of an analyte contained in a sample is, for example, known from US – A – 3, 948, 345. This spectrometer contains an electret microphone that is built in to a pressure sealed chamber, said microphone being used to verify the sound waves that are stimulated in the fill gas of the chamber. The sample that is arranged in the chamber acts as the source of the sound, said sample being irradiated on a large surface with the help of a pulsed laser beam and thereby periodically heated up.

The sample chamber of the photoacoustic cell as specified in the German utility model 80 08 158 is arranged in a housing that is filled with argon on a thermally insulated support base and is connected by a tube to the detector microphone that is fastened to the housing. The chamber closure that is opposite to a quartz window serves as a sample mount. This is comprised of an outer part that bears a heat coil and a metal body that seals off the chamber, the head piece of said metal body featuring a recess that receives the sample.

The optoacoustic cell that is known from Applied Physics Letters 32(5), 1978, page 289 – 291 is essentially comprised of a cylindrical chamber featuring two quartz windows, a built-in microphone that is tightly fixed to the chamber wall and two lenses that act as mirrors that respectively again reflect the emplaced laser light in the direction of the chamber. As a result of the multiple reflections, considerably more energy can be deposited in the sample gas and, as a consequence of that, the amplitude of the stimulated photoacoustic signal is clearly increased.

An open photoacoustic cell is described by D. H. McQueen in J. Phys. E.: Sci. Instrum. Vol. 16, 1983, page 738 – 739. It consists essentially of a ring shaped piezoelement, two also ring shaped contact electrodes and a sapphire disk that, except for one central area that serves as a light transmitting window, is metalized on both sides, whereby one supplies the light to the sensor cell with the help of a glass fiber.

### 3. The task and advantages of the invention

The goal of the invention is the creation of a simply constructed photoacoustic sensor, with which a high quality absorption spectrum for an analyte can be recorded even through media that greatly scatters light. Additionally, the sensor should make a noninvasive determination of blood contents possible. These tasks are solved according to the invention by means of a photoacoustic sensor having the characteristics as indicated in patent claim 1.

The advantage that can be achieved with the invention resides in particular in that one can place the sensor directly on to human skin and measure the absorption spectrum of a constituent of blood in vivo. Hereby, it is easily possible to place the ray focus directly on to a blood transporting area of tissue. Aside from that, depth profiles of the analyte can also be established through the measurement of signal propagation times.

### 4. The figures

The invention is explained in the following on the basis of the drawings. Hereby shown are:

- Fig. 1** the stimulation of acoustic shock waves in a biological tissue,  
**Fig. 2 and 3** exemplified embodiments of sensors according to the invention for the non invasive determination of the contents of blood,  
**Fig. 4** the construction of a photoacoustic laser spectrometer,  
**Fig. 5** an output signal of the photoacoustic sensor and a signal derived therefrom,  
**Fig. 6** an absorption spectrum for hemoglobin,  
**Fig. 7** pathological blood spectra,  
**Fig. 8** the optical spectrum of a dilute hemoglobin solution,  
**Fig. 9** a photoacoustic spectrum of human whole blood (original data and fit by means of the cubic spline functions).  
**Fig. 10** the attenuation of the PA signal amplitude with increasing thickness of a layer that is intermediate to an analyte and the sensor.  
**Fig. 11** the interdependence of the propagation time of the acoustic waves as a function of the thickness of a layer that is intermediate to the analyte and the sensor,  
**Fig. 12** PA in-vivo spectra

## 5. Generation and verification of acoustic shock waves

If one irradiates a sample 1, in particular a human tissue, with laser light 2 that is intensity modulated, then the irradiation in the irradiated volume 3 is at least in part absorbed and converted to heat through non radiating relaxation processes. As a result of the heat-up, the irradiated volume 3 expands, thereby giving the deposited heat energy to the surroundings, and it finally contracts again. This repeating process that repeats with the modulating frequency of the laser light 2 generates acoustic shock waves 4 that propagate in the sample 1 and are verified with the help of a sensor 5 that is arranged on the sample surface. The sensor 5 hereby measures a sound pressure amplitude  $P(\beta, E_p, x)$ , which approximates to:

$$P(\beta, E_p, x) = \frac{\beta \epsilon v_s}{C_p} \cdot \frac{E_p}{\tau_l} \cdot \frac{1}{2\pi \sqrt{r \cdot x}}$$

P: sound pressure amplitude

Beta: absorption coefficient

Epsilon: Expansion of coefficient

$V_s$ : speed of sound in the medium

$C_p$ : specific heat capacity of the sample

$E_p$ : pulse energy of the laser

$\tau_l$ : pulse duration of the laser

r: laser beam diameter

x: distance of the detector from the laser beam as calculated.

The human skin and the tissue that lies beneath it scatter impinging light very greatly, but hardly absorb in the visible range. In these media, sound waves therefore are not stimulated photoacoustically or only very weakly so. In contrast, the hemoglobin that is

contained in the red blood corpuscles possesses a strong absorption band in the range of wave length between 500 and 600 nm, so that blood arteries 6 are the main source of photoacoustically generated shockwaves 4.

## 6. Exemplified embodiments of the photoacoustic sensors

### 6.1 First exemplified embodiment

Fig. 2 shows the schematic construction of a sensor that is suited to the in vivo measurement of blood parameters, to which one supplies the pulsed laser light (wave length  $\lambda = 520 \text{ nm}$  to  $600 \text{ nm}$ , pulse energy  $E_p = 10 \text{ microJ} \dots 1 \text{ mJ}$ , impulse duration  $\tau = 10^{-8} \text{ s}$ ) by means of an optical quartz glass fiber 7. The length of the glass fiber 7 fastened on the upper housing part 8 up to the color dye laser that generates the rays is approximately 5 meters, its core diameter is approximately 1000 micrometers. Since the laser light 2 that exits at the head of the glass fiber 7 is greatly divergent (half beam opening angle  $\theta = 17 \text{ degrees}$ ), it is concentrated with the help of the optics 11 ( $f \leq 2 \text{ cm}$ ) comprised of two lenses 9/ 10 and focused at a point 13 that lies on the beam axis 12. In order to adjust the focal length of the optics 11 and thereby to be able to place the focus 13 of the laser light 2 at varying depths of the sample, the lower lens 10 is mounted in the sensor housing 8 so as to be able to shift. In this way the point 13 of maximal light intensity can, for example, aim directly at a blood artery (compare Fig. 1).

The reduction of the background signals that stems from layers near to the surface or to deeper lying layers as a result of the focusing of the laser beam appears in particular when examining weakly scattering samples, since in this case the illuminated area in terms of its size corresponds nearly to the beam focus generated by the optics 11 and the photoacoustic signal registered in the sensor in this way stems from a defined sample depth. In a biological tissue, as a result of the intense scattering of the impinging light, a clearly larger sample volume is irradiated (compare Fig. 1), with the consequence that the noise signal level also correspondingly increases. The main contribution to the photoacoustic signal, however, is also here again supplied by the material provided in the area of the maximal light intensity, that is in the focus 13 of the optics 11.

To verify the stimulated shock waves the sensor according to the invention uses a pressure sensitive element that is arranged in an aluminum housing 14 on the silvered surface of a sapphire disk 15 (thickness: 2 mm, diameter : 25 mm). It is comprised of a ring shaped piezoceramic 16 (PZT, 5A), the inner diameter of which is 4 mm and its outer diameter is 10 mm. An electrically conductive adhesive insures a fixed connection between the piezoceramic 16 and the sapphire disk 15. Its central area is not metalized within a circular surface that has a diameter of approximately 4 mm, and makes possible the passage of the laser beam 2 into the sample. The electrical contact of the piezoceramic 16 takes place by means of two copper rings 17, 18 that are adhered directly on to the piezoceramic 16 or on the silvered surface of the sapphire disk 15.

Since even the slightest light intensities can generate a large background signal in the pressure sensitive element as a result of the pyroelectric properties of the piezoceramic 16, the sensor is equipped with, for example, a scattered light diaphragm 19 that is comprised of brass. In the illustrated exemplified embodiment it takes the form of a truncated cone that is arranged symmetrical to the beam axis 12 and tapering in the direction of the sapphire disk 15, the hollow cylinder extension of which is held by the ring shaped piezoceramic 16. With the help of a pinhole diaphragm 19 that is fastened in the area of the focal point of the lens 9, scattered light at the upper part 8 of the sensor housing can also be effectively screened. All of these measures contribute to the reduction of the background signal generated by scattered light by nearly two orders of magnitude and to correspondingly increase the sensitivity of the sensor.

Since the total lower part 14 of the sensor housing is comprised of aluminum and is electrically connected to the ground of the verification electronics, electromagnetic stray effects are also suppressed to a large degree.

## 6.2 Second exemplified embodiment

All active components of the sensor as illustrated in Fig. 3 are arranged in a closed metal housing 20. The housing 20 comprised of aluminum forms a Faraday cage 20' which screens the ring shaped piezoceramic 16 and its electrical connections 17, 18 and 21 very well from high frequency electromagnetic scattered rays. In order to decrease the costs and the technical requirements for the manufacture of the sensor, the sapphire disk designated by 15 in Fig. 2 is replaced by a same-sized, approximately 0.2 mm thick copper disk 22 with a central bore hole 23 (diameter 4 mm) that acts as a beam passage window.

To insulate the sensor head from the sample, the copper disk 22 that bears the piezoceramic 16 and that is held by means of two Viton rings 33 can also be coated with additional electrical insulating enamel. The use of a contact gel as is known from ultrasound diagnostics is also useful in order, in particular, to acoustically couple biological samples, in order to thereby accommodate the differences in the impedances to one another and thus to assure an optimal transmission of acoustic energy.

A truncated cone shaped diaphragm 24 again serves as scattered light shadowing, and is arranged in the illustrated exemplified embodiment in a corresponding constructed bore hole of the lower housing part 20, and extending with its hollow cylinder shaped continuation up to the area of the copper disk 22.

## 6.3 Possible modifications to the photoacoustic sensor

The invention is obviously not limited to the above described exemplified embodiments. Thus, in a simple manner it is possible to mount the lens 9 so as not to move in the upper housing part 8, to displace said housing relative to the sensor head 20 and thereby to change the position of the focus 13 on the optical axis 12. In place of individual lenses 9

and 10, one can obviously also use groups of lenses, in particular so called zoom lenses as imaging elements.

The scattered light diaphragm 24 need not necessarily take the form of a truncated cone. It can also, in particular, be constructed as a hollow cylinder or as a pinhole diaphragm.

## 7. Construction of the photoacoustic laser spectrometer

Fig. 4 shows the construction of a laser spectrometer equipped with a sensor 25 according to the invention, that contains a color dye laser 27 pumped by an eximer laser 26 as a light source. Since the color dye laser 27 is coated with coumarin 153, one can dim it in the wave length range of 520 nm to 600 nm. The signal generator 28 serves to control the system. It generates the trigger impulse for the eximer laser 26 as well as also the reference signal for the lock-in amplifier 29. In this way, the photoacoustic useful signal allows itself to be filtered out very sensitively on the basis of its fixed phase relationship to the respective laser impulse, even with a relatively high noise background. The photoacoustic signal generated by the sensor 25 and illustrated in the lower part of fig. 5 is supplied to a unit 30 that is comprised of an amplifier and an electronic impulse dilator, converted there into a signal represented in the upper part of figure 5 (the decay time of the signal, for reasons of overview, was selected as 20 microseconds, but it can very easily be extended up to 10 msec.) and further processed in the lock-in amplifier 29. A conversion of the photoacoustic signal is necessary, since the maximum pulse repetition frequency of the laser system is only approximately 100 Hz and the pulse duration is about 10 nsec. The photoacoustic impulses registered in the sensor 25 thus possess 50% down band widths of approximately 0.1 microseconds ... 1 microsec, from which a repetition ratio (PA – impulse duration / impulse gap > 10 ms) on the order of magnitude of  $1 : 10^4$  to  $1 : 10^5$  is calculated. Since the lock-in amplifier, however, effectively only works with a repetition ratio of  $1 : 10$  to  $1 : 100$ , an impulse dilation by a factor of 1000 is required.

By using a step motor that is controlled by a computer 31 on the ultrasonic cross grating of the color laser 27, its emission wave length is determined. Since the step width of 0.5 nm is smaller than the typical 50% down bandwidth of absorption bands in liquid media ( $\Delta \lambda > 10 \text{ nm}$ ), a sufficiently good resolution results. The signal amplitudes formed by the lock-in amplifier 29 are digitized, read out and stored together with the respective wave lengths of the laser light in the computer 31 in the form of a matrix for further evaluation.

## 8. Measurements on hemoglobin

### 8.1 Background

One of the most important constituents of blood is hemoglobin (Hb), which is responsible for the transport of oxygen and possesses a strong absorption band in the wave length

range of 500 nm to 600 nm, the so-called Q band. This characteristic band was the choice for the first test of the sensor, since with coumarin 153 an ideal laser color dye for this wavelength was available. But there is also a considerable interest in recording hemoglobin spectra because of its great significance in medical diagnostics.

As can be seen in Fig. 6, the absorption band of hemoglobin changes depending on the load of oxygen in the blood, whereby the absorption spectrum of HbO<sub>2</sub> features a characteristic chair-like form in the wave length range of between 500 nm and 600 nm. There is thus the possibility of determining the partial pressure of oxygen in blood by means of the analysis of the Hb absorption spectra.

Fig. 7 clarifies the influence of blood illnesses on the absorption spectra of hemoglobin. One sees that blood illnesses have a strong influence on the Q band and thereby also change the absorption spectra in a characteristic manner.

The spectra illustrated in Fig. 6 and 7 were already recorded with the help of photoacoustic spectroscopy. To record the spectra, the patients must, to be sure, first provide blood in order to be able to then examine these in a modified commercial spectrophotometer. The recording of a blood spectrum of adequate quality with the use of a non invasive procedure would, by contrast, make rapid and completely pain free blood diagnosis possible.

## 8.2 Experimental results

Figure 8 shows an optical spectrum of a dilute hemoglobin solution that serves as a reference. To produce the solution, 1 ml of human whole blood is dissolved in 99 ml of distilled water, so that the osmotic shock disrupts the erythrocytes and the hemoglobin concentrated in them is liberated. If one permits the corpuscular residue to sediment, there results a turbidity-free, lightly reddish Hb solution that one can now use for tests in a commercial spectrophotometer.

A spectrum of undiluted human whole blood recorded with the help of a device described in section 7 is shown in Fig. 9. During the measurement, a 0.12 mm thick vinyl membrane was arranged between the sensor head and the blood sample to simulate a layer of skin. Vinyl, like the human skin, is a weakly absorbing but a strongly scattering medium in the investigated wave length range. In the photoacoustic spectrum one clearly recognizes the two absorption lines of hemoglobin at 540 nm and 575 nm. Also, the relevant height and width of the lines agree well with those of the optical reference spectra. The slight deviations result from, among others, the fact that aside from the optical parameters, the thermal properties of the sample also influence the photoacoustic spectrum. To record the spectrum as is illustrated in Fig. 8, one requires approximately 3.5 minutes. The measurement time can be decreased considerably, however, with a limitation to analytically significant wave lengths.

If the thickness of the medium provided between the blood sample and the sensor head is enlarged step wise by means of the insertion of further vinyl layers, then one observes a rapid decrease in the signal amplitude (see Fig. 10). This can, in part, be led back to the fact that the vinyl layers relative to one another only have poor acoustic contact and the coefficient of scattered light enlarges considerably in a multilayer system. One can therefore assume that the decrease in the signal amplitude with increasing thickness of tissue is less pronounced in a real biological system.

To standardize measured signal amplitudes one requires information about the thickness of the medium between the sensor and the analyte. This can be derived, for example, from the photoacoustic spectroscopy, for example, from the propagation time of the acoustic waves. As the first measurements on vinyl layers of varying thickness show, one can hereby expect a depth resolution on the order of magnitude of approximately 0.1 mm (see Fig. 11).

### 8.3 In vivo measurements

Figure 11 shows the first PA absorption spectra that were recorded by means of in vivo measurements on three test persons with the use of the device as is shown in Fig. 4. An in vitro PA spectrum of human whole blood served as the reference. To record the spectra smoothed with the help of a cubic spline function, the smallest finger of the left hand was placed on the sensor surface and lightly pressed on. As a contact means, a contact gel known from the field of sonographic diagnostics was used. A measurement of the pressure exerted on the finger was not carried out.

In all three spectra the absorption lines of the hemoglobin were observed at approximately 540 nm and 575 nm. Between absorption maxima the photoacoustic signal decreased in the case of all three tested persons, whereby the absorption minimum, however, remained variably intense. The variations in the absolute height of the photoacoustic signals can be caused by anatomic differences (hematocrit value, tissue perfusion and thickness of the tissue layer). Different press-on force and the resulting changes in the acoustic coupling surely also play an fundamental role.

### 9. Conclusion and the future

With the help of the photoacoustic laser sensor, thoroughly high quality recordings of spectra from strongly absorbing analysates (for example whole blood) can be recorded through highly light scattering media (skin or tissue layers).

The sensor that is based on a piezoelectrical sound pressure converter possesses a large dynamic band width ( $f_{-3db} > 1$  MHz). By measuring the propagation time of the photoacoustic shock wave, depth profiles can be established in the biological tissue with a spatial resolution of approximately 1/10 mm.

First in vivo spectra show the absorption maxima at wavelengths typical for HbO<sub>2</sub>.

As a consequence of the low noise background signal, absorption bands of analysates that have a low concentration in blood can also be verified with significance.

## Patent Claims

1. Photoacoustic sensor with
  - an element (7) that emits electromagnetic radiation (2),
  - an optical unit (9 to 11) to generate a ray focus (13) that is outside the sensor in the inside of the sample,
  - a pressure sensitive element (16 to 18) to verify a photoacoustic signal stimulated in the sample and
  - a device (17, 24) to screen the pressure sensitive element (16 to 18) from electromagnetic scattered rays.
2. Photoacoustic sensor according to claim 1, characterized by the fact that the device (15, 24) for screening is arranged between the optical unit (9 to 11) and the pressure sensitive element (16 to 18).
3. Photoacoustic sensor according to claim 1 or 2, characterized by a diaphragm (17, 24) as a device for screening.
4. Photoacoustic sensor according to claim 3, characterized by the fact that the diaphragm (17, 24) features the form of a truncated cone that tapers in the direction of the pressure sensitive element (16 to 18).
5. Photoacoustic sensor according to claim 3 or 4, characterized by the fact that the pressure sensitive element (16 to 18) is arranged in a housing (20), that the housing (20) features a first bore hole that lies opposite the optical unit (9 to 11) and the diaphragm (24) is arranged in the first bore hole.
6. Photoacoustic sensor according to claim 5, characterized by a conical first bore hole
7. Photoacoustic sensor according to one of the claims 1 to 6, characterized by the fact that the pressure sensitive element (16 to 18) is arranged on a carrier body (15, 22) that is applied on the sample or coupled to it acoustically, whereby the carrier body (15, 22) features a transparent area for the electromagnetic radiation (2) or a bore hole (23) for the passage of the electromagnetic radiation (2).
8. Photoacoustic sensor according to one of the claims 5 to 7, characterized by the fact that the housing (20) features a sample-side bore hole that is closed off by the carrier body (22, 23).
9. Photoacoustic sensor according to one of the claims 3 to 8, characterized by the fact that the pressure sensitive element (16 to 18) and the diaphragm (24) are arranged in a lower housing part (20) and the optical unit (9 to 11) in an upper housing part (8).



10. Photoacoustic sensor according to one of the claims 3 to 9, characterized by the fact that the upper and the lower housing parts (8, 14, 20) can be displaced relative to one another.

11. Photoacoustic sensor according to one of the claims 1 to 10, characterized by the fact that the pressure sensitive element (16 to 18) is constructed in a ring shape and is comprised of a piezoelectric material.

12. Photoacoustic sensor according to one of the claims 1 to 11, characterized by a carrier body (15, 22) that is comprised of sapphire or a metal.

13. Photoacoustic sensor according to one of the claims 1 to 12, characterized by an optical unit (11) that features a variable focal length.

14. Photoacoustic sensor according to one of the claims 1 to 13, characterized by the fact that the optical unit (9, 11) is comprised of two lens elements (9, 10) that can move relative to one another.

15. Photoacoustic sensor according to claim 14, characterized by a scattered light diaphragm (19') that is arranged between the two lens elements (9, 10).

16. Use of a photoacoustic sensor according to one or more of the previous claims for the in vivo measurement of the absorption spectrum of a blood constituent.